

University of Groningen

Histofysiologie van het helper t cellen systeem in het konijn

Blijham, Geert Harmannus

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1975

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Blijham, G. H. (1975). *Histofysiologie van het helper t cellen systeem in het konijn*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Opzet van het in dit proefschrift beschreven onderzoek was te komen tot een nadere karakterisering van die T cellen en T cel reacties, die, in het konijn, betrokken zijn bij de helper-aktiviteit voor de humorale antilichaam vorming. Een dergelijke karakterisering is van belang zowel voor het verkrijgen van verder inzicht in de wijze waarop fysiologische koöperatie tussen T en B cellen plaatsvindt, als voor het verder in kaart brengen van het, funktioneel en cellulair heterogene, systeem van perifere T cellen.

In **hoofdstuk I** worden eerst (1.2) aan de hand van de literatuur een aantal T cel functies behandeld met de bedoeling informatie te verkrijgen over de cellulair-immunologische eigenschappen van de daarbij betrokken cellen. Daarbij is bijzondere aandacht aan de helper-functie besteed. Vervolgens (1.3) worden een aantal literatuur-gegevens besproken op grond waarvan kan worden aangenomen dat binnen de populatie perifere T cellen subklassen moeten worden onderscheiden, die zowel funktioneel als wat betreft de eigenschappen van de ertoe behorende cellen van elkaar verschillen.

In **hoofdstuk II** worden de in de experimenten gebruikte materialen en methoden beschreven. Bizondere aandacht wordt daarbij geschonken aan een aantal aspecten van de haemolytische plaque-test, o.a. met betrekking tot het gebruik van diverse indikator-systemen zoals schape-erythrocyten (SRBC), kippe-erythrocyten (ChRBC), een mengsel van SRBC en ChRBC en SRBC waaraan hu-maan gammaglobuline (HuGG) is gekoppeld.

De bedoeling van de **hoofdstuk III** beschreven experimenten was het morfologisch substraat van de T cel afhankelijkheid van humorale antilichaam vorming te bestuderen. Daartoe werden de reactie-beelden van milt en (tevorens lokaal bestraalde) lymfklieren geanalyseerd na primaire en sekundaire intraveneuze (i.v.) of subcutane (s.c.) toediening van antigenen die van elkaar verschillen in de mate waarin de antilichaam vorming ertegen van de aanwezigheid van T cellen afhankelijk is. Bovendien werd het verloop van de antilichaam vorming gedurende de eerste dagen van de primaire en sekundaire immuun-reactie onderzocht, zowel op nivo van antilichaam vormende cellen als in het serum. Op deze wijze werden ook gegevens verkregen over de relatie tussen de plasmacellulaire reactie (PCR), 'plaque-forming-cells' reactie (PFC-reactie) en serum titer ontwikkeling. De in deze studies gebruikte antigenen zijn (1) een Paratyphus-B vaccin (PAR), waartegen de IgM vorming T onafhankelijk is, en (2) heterologe gammaglobulines (HuGG en HoGG) en erythrocyten (SRBC en ChRBC), waartegen in T celloze konijnen geen antilichaam wordt gevormd.

De belangrijkste resultaten van deze experimenten zijn bijeen gebracht in tabel S.1. Daaruit blijkt dat de (histologisch als PCR waarneembare, funktioneel als PFC-reactie of serum titer ontwikkeling detekteerbare) primaire antilichaam vorming tegen PAR enerzijds en heterologe gammaglobulines of SRBC anderzijds verschillen in begin- en piekmoment: **de T (cel) afhankelijke antilichaam vorming is 1 à 2 dagen verlaat**. Bovendien is er verschil in lokalisatie van de eerste stadia van de PCR: deze worden, althans in lymfklieren, na PAR diffuus in B gebieden, na SRBC en HoGG/HuGG op de grens van T en B gebieden gevonden, waardoor een **band** (lymfklier) of **ring** (milt) ontstaat. Wat betreft de follikel centrum reactie en de sekundaire PCR werd tussen de gebruikte antigenen geen verschil gevonden.

Bij de primaire immuun reactie tegen antigenen als SRBC gaat aan de (late!)

TABEL S.1.**KARAKTERISTIEKEN VAN T ONAFHANKELIJKE VERSUS T AFHANKELIJKE PRIMAIRE ANTILICHAAM VORMING IN HET KONIJN**

			PAR	HuGG/HoGG	SRBC
HISTOLOGIE					
histologie in de lokaal bestraalde lymfklier na antigeen s.c.	start T cel reactie		0-24 hrs	0-24 hrs	0-24 hrs
	start PCR		0-24 hrs	48-72 hrs	48-72 hrs
	start GCR		72-96 hrs	72-96 hrs	72-96 hrs
histologie in de milt na antigeen i.v.	start T cel reactie		nauwelijks	nauwelijks	24-48 hrs
	start PCR		0-24 hrs	48-72 hrs	48-72 hrs
	start GCR		72-96 hrs	72-96 hrs	72-96 hrs
PFC-REAKTIE					
PFC-reactie in de lymfklier	eerste IgM-PFC waarneembaar		—	96 hrs	72 hrs
	piek van de IgM-PFC reactie		—	—	96-120 hrs
PFC-reactie in de milt	eerste IgM-PFC waarneembaar		—	72 hrs	72 hrs
	piek van de IgM-PFC reactie		—	120 hrs	120 hrs
SERUMTITER					
IgM-vorming T afhankelijk?			neen	ja	ja
	eerste IgM-titer waarneembaar		72 hrs	96-120 hrs	96 hrs
IgG-vorming T afhankelijk?			ja	ja	ja
	eerste IgG-titer waarneembaar		120 hrs	120 hrs	—

antilichaa
gedurenc
terdigter
mogelijk
wordt bei
De bet
onduidelij
(‘snellere’
dens deze
i.t.t. virgin
cellen te l
richt deze

In hoofdstuk
helper T c
werden lym
nen overge
testosis a.
bestudeerd
bruikt, en
deerd (SRT
PAR gewerl
van de anti-
De result
1. In het kor
tie bekenn
teit, in fei
werd geve
van met P
dat deze
worden ve
2. Effect van
nijnen mee
T cellen e
substraat
mate in de
3. Er werden
niet alleen
van de ant
Beide gebrui
van de histo
piënt’ syste
cipiënt’ syste
deze redene
naar een een

In hoofdstuk
ring van de
schreven. He
immuniseerd
volgens geto
SRBC (testo
lymfklieren (P
kontroles.
In eerste in

antilichaam vorming een (o.a. proliferatieve) T cel reactie vooraf. Soms werden gedurende deze reactie **clusters** waargenomen, bestaande uit een (centrale) Interdigiterende Cel (IDC) omgeven door één enkele laag immunoblasten. Het is mogelijk dat op deze wijze de differentiatie van (sommige) T cellen door IDC's wordt beïnvloed.

De betekenis van de T cel reactie voor de humorale antilichaam vorming is onduidelijk; de in dit hoofdstuk beschreven resultaten (late primaire, vroege ('snellere') sekundaire T afhankelijke antilichaam vorming) suggereren dat tijdens deze reactie wellicht een nieuw T cel type ontstaat (**memory T cel**) dat, i.t.t. virginalen T cellen, in staat is binnen korte tijd na antigeen contact met B cellen te koopereren. Het vervolg van het onderzoek was er met name op gericht deze hypothese te toetsen.

In **hoofdstuk IV** werd vervolgens getracht de histofysiologie van het systeem van helper T cellen te bestuderen met behulp van transfer-experimenten. Daarbij werden lymfoïede cellen van (al dan niet met antigeen gestimuleerde) T konijnen overgebracht naar intakte of B recipiënten, die, tegelijk met de transfer, een testdosis antigeen ontvingen en waarin vervolgens de antilichaam vorming werd bestudeerd. In de eerste serie experimenten (IV.2) werd als antigeen SRBC gebruikt, en in intakte recipiënten de antilichaam vorming op PFC-nivo bestudeerd ('SRBC-intakte recipiënt' systeem). In een tweede serie (IV.3) werd met PAR gewerkt en het effect van de overbrenging van T cellen op de ontwikkeling van de anti-PAR IgG titer in B recipiënten gevolgd ('PAR-B recipiënt' systeem).

De resultaten van deze experimenten kunnen als volgt worden samengevat.

1. In het konijn kan iets dat vergelijkbaar is met wat in de muis als **T cel educatie** bekend staat worden aangetoond. Toegenomen (potentiële) helperactiviteit, in feite een toegenomen vermogen tot hulp aan anti-PAR IgG-B cellen, werd gevonden in een gekombineerde celsuspensie van milt en lymfklieren van met PAR geïmmuniseerde T konijnen. Er werden aanwijzingen gevonden dat deze **specifieke hulp** in bepaalde (experimentele) omstandigheden kan worden vervangen door **aspecifieke hulp** middels het **allogeen effect**.
2. Effect van T cel educatie is in ieder geval 4 dagen na immunisatie van T konijnen meetbaar. Er zijn aanwijzingen, dat recent uit de thymus geïmigreerde T cellen erbij betrokken kunnen zijn, en dat de reactie, die het morfologisch substraat van T cel educatie is, vooral in de lymfklieren en slechts in geringe mate in de milt kan plaatsvinden.
3. Er werden aanwijzingen gevonden dat de toegenomen helperactiviteit zich niet alleen als toename, maar ook als een vervroegd optreden (**versnelling**) van de antilichaam vorming manifesteert.

Beide gebruikte systemen bleken weinig bruikbaar voor het verder bestuderen van de histofysiologie van het helper T cellen systeem, het 'SRBC-intakte recipiënt' systeem o.a. door het optreden van een allogeen effect, het 'PAR-B recipiënt' systeem door technische gekompliceerdheid en hoge mortaliteit. Om deze redenen is niet met deze beide systemen verder gegaan, maar gezocht naar een eenvoudiger, liefst autoloog systeem.

In **hoofdstuk V** wordt een nieuw **autoloog** experimenteel systeem ter bestudering van de ontwikkeling en eigenschappen van T memory in het konijn beschreven. Het basis-systeem hiervan is het volgende. Konijnen werden i.v. geïmmuniseerd met SRBC (priming); de ontwikkeling van (T?)memory werd vervolgens getoetst door op verschillende tijdstippen na i.v. priming opnieuw SRBC (testdosis), nu s.c., toe te dienen, en het reactiepatroon van drainerende lymfklieren (PFC-reactie) te vergelijken met dat van niet i.v. gepreïmmuniseerde controles.

In eerste instantie werd als interval tussen i.v. priming en s.c. testdosis een

periode van 4 dagen gekozen omdat, op grond van de literatuur, aan het eind van deze periode wel een effect van T memory, maar nog nauwelijks van B memory verwacht mag worden. Het bleek, dat het belangrijkste effect van i.v. priming 4 dagen voor s.c. stimulatie een **vervroeging** (verder te noemen een **versnelling**) van de lymfklier IgM-reactie in begin- en piekmoment met 1 à 2 dagen was; de latente fase was nu minder dan 24 hrs, de piek werd rond dag 3 bereikt. Dit fenomeen is het **versnellingseffekt** genoemd.

Vervolgens werd getracht experimenteel te bevestigen dat het versnellings-effekt de expressie van T memory representeert. Daarbij werd gebruik gemaakt van de bevinding dat SRBC en ChrBC op nivo van PFC uitgebreid (i.e. tussen 30 en 90%) kruisreageren. Het bleek nu, bij experimenten met SRBC-priming gevolgd door een testdosis ChrBC en vice versa, dat deze kruisreactiviteit ook opgaat voor de ontwikkeling van B memory, maar niet voor de ontwikkeling van het versnellingseffekt. Zelfs indien kruisreagerende (i.e. door ChrBC opgewekte, door SRBC tot PFC te induceren) memory B cellen aanwezig zijn, werd geen versnelde reactie in met SRBC gestimuleerde lymfklieren gevonden; **het versnellingseffekt is geen eigenschap van B memory, maar een uiting van T memory.**

In een aantal experimenten, waarbij o.a. serum van 4 dagen tevoren met SRBC geïmmuniseerde dieren naar intacte recipiënten werd overgebracht, werd aannemelijk gemaakt dat het versnellingseffekt niet berust op het in cirkulatie zijn van specifieke of aspecifieke humorale koöperatieve factoren, maar een **celgebonden** fenomeen is.

Het versnellingseffekt bleek een exclusieve expressie van T memory; het kan het beste worden uitgedrukt in de **ratio 4/3**, i.e. het aantal DPFC (direkte (IgM-) PFC) per 10^6 lymfkliercellen gevonden 4 dagen na de s.c. testdosis gedeeld door het aantal DPFC per 10^6 lymfkliercellen gevonden op dag 3. Bij een ratio 4/3 kleiner dan 2.5 kan worden aangenomen dat er op het moment van s.c. stimulatie T memory aanwezig was, bij een ratio 4/3 van 8 of meer was dit zeker niet het geval. De experimenten over het versnellingseffekt leidden verder tot de volgende konklusies betreffende T memory:

1. T memory is binnen enkele dagen (± 2.5 dagen) na immunisatie aantoonbaar, en lijkt na 4 dagen optimaal
2. T memory is specifiek in inductie en expressie
3. T memory betreft, bij de antigenen SRBC en ChrBC, grotendeels andere antigene determinanten dan die waartegen het (versneld) gevormde antilichaam is gericht
4. zowel IgM als IgG vorming worden door T memory versneld.

Ook van **B memory** werden een aantal eigenschappen gevonden of bevestigd. Het bleek dat B memory vooral een verandering in de samenstelling van de populatie 'antibody-forming-cell precursors' (AFCP) ten voordele van IgG en ten nadele van IgM produktie betreft. Deze verandering kan het beste worden uitgedrukt in de **ratio (I-D)/D**, i.e. het aantal IgG-PFC gedeeld door het aantal IgM-PFC, beide bepaald op dag 4 na s.c. stimulatie in de lymfklier. Tijdens primaire reacties bedroeg deze ratio ongeveer 0.1, in aanwezigheid van B memory werden waarden van ongeveer 3 bereikt. In tegenstelling tot wat m.b.t. T memory werd gevonden bleek B memory rond dag 4 na priming pas net aantoonbaar en in de daarop volgende weken volledig tot ontwikkeling te komen.

Op grond van de in dit hoofdstuk beschreven resultaten is het waarschijnlijk dat **de vorming van T memory in het konijn naast proliferatie omvat de overgang van virginalen T cellen (pre-helper T lymfocyten = pre-HTL) naar kwalitatief daarvan te onderscheiden memory T cellen.** Het is niet duidelijk of deze laatste categorie cellen moet worden geïdentificeerd ofwel met persisterende effektor cellen (HTL), ofwel met een nieuw ontstaan, veranderd type voorlopers daarvan (imm-HTL), ofwel met beide; memory T cellen zullen daarom worden aange-

duid als (i) staat o.a. t dat (imm-) uit te schei

In hoofdstu schreven sy schappen v

In de eer T memory c bij bleek, de den na toed ontstaan; T i baar) antilicl bij lage dose val is.

In de twee nader onderz bestraling (1C latie verricht; tempo van bk werd de lymf de resultaten snelle reaktiv effect van i.v. dat m.n. bij eel die in niet-gep een uiting van waarvan pre-H dividuele, s.c. schikking staan

Tesamen ger HTL tot de reci

In de derde ganen (thymus, zijn voor de or als volgt worde

1. Thymektomie op de ontwik

noch voor hu

2. Splenektomie het na i.v. pri splenektomie tomie én sple

Uit deze re

reactie pre-H speelt. In daa reactieplaats

3. Na i.v. immun keld lymfoied wikkeling); in SRBC i.v. een na s.c. stimula

4. Tijdens de pri aanzienlijke a

uur, aan het eind
nauwelijks van B
ste effect van i.v.
r te noemen een
ent met 1 à 2 da-
rd rond dag 3 be-

het versnellings-
gebruik gemaakt
breid (i.e. tussen
het SRBC-priming
uisreactiviteit ook
ontwikkeling van
or ChrBC opge-
anwezig zijn, werd
en gevonden; **het**
een uiting van T

agen tevoren met
vergebracht, werd
p het in cirkulatie
aktoren, maar een

T memory; het kan
PFC (direkte (IgM-)
testdosis gedeeld
lag 3. Bij een ratio
moment van s.c. sti-
neer was dit zeker
idden verder tot de

munisatie aantoon-

rotendeels andere
d) gevormde anti-

d.

inden of bevestigd.
stelling van de po-
le van IgG en ten
beste worden uit-
or het aantal IgM-
r. Tijdens primaire
an B memory wer-
t m.b.t. T memory
et aantoonbaar en
ien.

het waarschijnlijk
omvat de overgang
) naar kwalitatief
lijk of deze laatste
sisterende effektor
oorlopers daarvan
m worden aange-

duid als (imm-)HTL. **Dit kwalitatieve verschil tussen pre-HTL en (imm-)HTL be-
staat o.a. uit een versneld vermogen met B cellen te koöpereren, mogelijk om-
dat (imm-)HTL versneld in staat zijn koöperatieve factoren te synthetiseren en
uit te scheiden.**

In **hoofdstuk VI** tenslotte werden, gebruikmakend van het in hoofdstuk V be-
schreven systeem ter detektie van de aanwezigheid van T memory, enige eigen-
schappen van het helper-deel van het T cellen systeem nader bestudeerd.

In de **eerste plaats** (VI.2.1) werd de relatie tussen primings-dosis enerzijds,
T memory ontwikkeling en antilichaam vorming anderzijds onderzocht. Daar-
bij bleek, dat de reactie waarbij uit pre-HTL (imm-)HTL ontstaan kan plaatsvin-
den na toediening van zodanige doses antigeen i.v. dat niet of nauwelijks PFC
ontstaan; **T memory kan tot ontwikkeling komen zonder dat tegelijk (detekteer-
baar) antilichaam wordt gevormd.** Wel leek de reactie pre-HTL → (imm-)HTL
bij lage doses antigeen trager te verlopen dan bij optimale doseringen het ge-
val is.

In de **tweede plaats** (VI.2.2) werd de mobiliteit van pre-HTL en (imm-)HTL
nader onderzocht. Daartoe werden in eerste instantie experimenten met lokale
bestraling (1000 r) van de popliteale lymfklieren (PLN) één dag voor s.c. stimu-
latie verricht; uit de resultaten kan worden afgeleid dat (imm-)HTL zich in hoog
tempo van bloed naar lymfklier kunnen verplaatsen. In volgende experimenten
werd de lymfklier tijdens een totale lichaamsbestraling (450 r) beschermd; uit
de resultaten wordt geconcludeerd dat gestimuleerde PLN voor optimale ver-
snelde reactiviteit van influx van (imm-)HTL afhankelijk zijn. Tenslotte werd het
effect van i.v. priming 1 of 2 dagen voor de s.c. testdosis onderzocht. Het bleek
dat m.n. bij een primings-duur van 1 dag de lymfklier reactie is afgenomen t.o.v.
die in niet-gepreïmmuniseerde controles. Dit resultaat werd geïnterpreteerd als
een uiting van 'antigen induced selective recruitment of lymphocytes', als gevolg
waarvan pre-HTL tijdelijk aan de (re)cirkulatie worden onttrokken en dus aan in-
dividuele, s.c. gestimuleerde lymfklieren afgenomen aantallen pre-HTL ter be-
schikking staan.

Tesamen genomen wijzen deze resultaten erop dat **zowel pre-HTL als (imm-)
HTL tot de recirkulerende populatie T cellen behoren.**

In de **derde plaats** (VI.2.3) werd onderzocht in welke mate verschillende or-
ganen (thymus, milt, beenmerg, lymfklieren, appendix) bijdragen aan of nodig
zijn voor de ontwikkeling van T memory. De belangrijkste resultaten kunnen
als volgt worden samengevat.

1. Thymektomie, zelfs indien 1 jaar voor i.v. priming verricht, is niet van invloed
op de ontwikkeling van T memory; **pre-HTL zijn niet 'recently thymus-derived',
noch voor hun functie van de aanwezigheid van de thymus afhankelijk.**
2. Splenektomie verricht voor priming is evenmin van (merkbare) invloed op
het na i.v. priming tot ontwikkeling komen van (imm-)HTL; dit geldt ook voor
splenektomie verricht 1, 2 of 4 dagen na priming. Een combinatie van thymek-
tomie én splenektomie is eveneens zonder effect.

Uit deze resultaten wordt geconcludeerd dat **een belangrijk deel van de
reactie pre-HTL → (imm-)HTL zich, ook na i.v. immunisatie, buiten de milt af-
speelt.** In daarop volgende experimenten werd getracht deze extra-splenale
reactieplaats nader te lokaliseren.

3. Na i.v. immunisatie met SRBC werd ook door niet in de bloedbaan gescha-
keld lymfoïed weefsel, zoals lymfklieren en appendix, gereageerd (PFC-ont-
wikkeling); in de sekundaire reactie werd zelfs na een relatief lage dosis
SRBC i.v. een PLN-reactie gevonden die nauwelijks vertraagd was t.o.v. die
na s.c. stimulatie.
4. Tijdens de primaire en sekundaire immuun reactie komen in het beenmerg
aanzienlijke aantallen PFC voor. Op grond van splenektomie-experimenten

TABEL S.2.

EIGENSCHAPPEN VAN PRE-HTL, (IMM-)HTL EN DE REAKTIE VAN PRE-HTL NAAR (IMM-)HTL

PRE-HTL	zijn niet 'recently thymus-derived' recirkuleren	thymektomie-experimenten X-experimenten effekt van i.v. priming 24 hrs voor s.c. stimulatie
REAKTIE PRE-HTL → (IMM-)HTL	treedt op bij relatief lage antigeen doses vindt na i.v. immunisatie grotendeels buiten de milt en waarschijnlijk evenmin in het beenmerg plaats is m.n. gericht tegen andere determinanten dan waartegen vooral antilichaam wordt gevormd is cyclofosfamide gevoelig	diskrepantie vorming (imm-)HTL en milt-PFC splenektomie-experimenten analyse ontwikkeling beenmerg-PFC SRBC-ChRBC experimenten analyse effecten toediening Cy tussen 0 en 4 d. na priming (met dr. A. A. van den Broek)
(IMM-)HTL	zijn waarschijnlijk kwalitatief verschillend van pre-HTL recirkuleren zijn 90 dagen na i.v. priming nog optimaal aantoonbaar	versnellings-effekt X-experimenten bepaling ratio 4/3 op verschillende tijdstippen na priming

werd vas
ontstaan,
lymfklier
heeft een
de plasm
met antig
5. Het beei
binnen 4
klieren wa
latie wel.
toediening
plaatsvind
Op grom
reerd dat
gekomen
schakeld,
zocht moe

De belangrij
HTL → (imm
schreven exp
dit overzicht,
functies beke
dat de T celle
toxische T ce
pre-HTL en (i
waartoe ook i
host reactions
horen.

werd vastgesteld dat op z'n minst een deel van deze PFC niet in situ zijn ontstaan, maar nakomelingen zijn van in de milt (na i.v. immunisatie) of in de lymfklier (na s.c. stimulatie) geïnduceerde B cellen. **Het konijne-beenmerg heeft een belangrijke functie bij het opvangen en vasthouden van cellen uit de plasmacellulaire differentiatie-reeks, waarvan de voorloper (AFCP) elders met antigeen heeft gereageerd.**

5. Het beenmerg bleek, in aanwezigheid van memory B cellen en T cellen, niet binnen 4 dagen na i.v. immunisatie tot een eigen PFC-reaktie in staat; lymfklieren waren dat, onder overigens identieke omstandigheden, bij s.c. stimulatie wel. Dit resultaat maakt het onwaarschijnlijk dat in de eerste dagen na toediening van een antigeen een effectieve T cel reaktie in het beenmerg plaatsvindt.

Op grond van dit resultaat, en die vermeld onder 3 en 4, wordt gesuggereerd dat **de oorsprong van na i.v. immunisatie buiten de milt tot ontwikkeling gekomen (imm-)HTL niet in het beenmerg, maar in niet in de bloedbaan geschakeld, extracirkulatoir, lymfoïed weefsel zoals lymfklieren en appendix gezocht moet worden.**

De belangrijkste eigenschappen van pre-HTL, (imm-)HTL en de reaktie pre-HTL → (imm-)HTL, voor zover uit de resultaten van de in dit proefschrift beschreven experimenten af te leiden, zijn samengevat in tabel S.2. Op grond van dit overzicht, en van wat over de cellen betrokken bij verschillende andere T cel functies bekend en in hoofdstuk I weergegeven is, kan worden gekonkludeerd dat de T cellen betrokken bij de helper functie weinig eigenschappen met cytotoxische T cellen en hun voorlopers gemeen hebben. Het is waarschijnlijk, dat pre-HTL en (imm-)HTL tot die subklasse van T cellen gerekend moeten worden waartoe ook initiator cellen voor 'mixed lymphocyte reactions' en 'graft-versus-host reactions', en sommige cellen betrokken bij de cellulaire immuniteit, behoren.